BD Dermatophyte Test Medium Agar

APPLICATION

La **BD Dermatophyte Test Medium Agar** (gélose de test dermatophyte) est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement de champignons pathogènes à partir d'infections superficielles de la peau, des cheveux et des ongles. Le milieu est fourni sous forme de géloses inclinées, dans des fioles à bouchon à vis.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.
En 1969, Taplin *et al*. ont développé ce milieu en vue de l'isolement de dermatophytes à partir de lésions cutanées, comme la dermatomycose, de cheveux, d'ongles et de peau.[1] Ce milieu est recommandé pour l'isolement des dermatophytes. Il est particulièrement efficace pour isoler les genres *Microsporum, Trichophyton* et *Epidermophyton*.[2-4]
Dans la **BD Dermatophyte Test Medium Agar**, les peptones fournissent l'azote nécessaire et sont la source des éléments alcalins produits par les dermatophytes. Lorsque les peptones sont métabolisées en produits alcalins, l'indicateur au rouge de phénol passe du jaune au rouge.[3] Du glucose est ajouté en tant qu'élément nutritif pour permettre une acidification par les champignons capables d'utiliser principalement le glucose. La plupart des champignons autres que les dermatophytes, notamment les levures et les champignons filamenteux (s'ils sont capables de se développer dans le milieu), utilisent le glucose. Il en résulte la formation d'acide. Aucun changement de couleur de l'indicateur de pH, le rouge de phénol, ne se produit. Le cycloheximide est un inhibiteur pour les moisissures et les levures non pathogènes. La gentamicine et la tétracycline sont des inhibiteurs antibactériens. Quelques microorganismes, notamment les saprophytes, les levures et les bactéries, sont capables de se développer dans le milieu et de faire passer l'indicateur du rouge au jaune. Ils sont facilement reconnaissables de par la morphologie caractéristique de leurs colonies.

REACTIFS

BD Dermatophyte Test Medium Agar
Formule* par litre d'eau purifiée

Digestion papaïque de semoule de soja	10,0 g
Glucose	10,0
Rouge de phénol	0,2
Cycloheximide	0,5
Gentamicine	0,1
Hydrochlorure de tétracycline	0,1
Gélose	20,0

pH 5,5 ± 0,2
*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement.
Ne pas utiliser de fioles présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.
Porter des gants de protection pendant la préparation et le prélèvement des échantillons.
Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations sur les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les fioles dans l'obscurité entre 2 et 8 °C jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Les fioles peuvent être ensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette du récipient ou de l'emballage), et incubées pendant les durées recommandées.
Les fioles provenant de boîtes déjà entamées peuvent être utilisées jusqu'à la date de péremption, dans la mesure où elles sont conservées dans l'obscurité. Les fioles ouvertes doivent être utilisées immédiatement.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus d'informations, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Incuber les flacons en atmosphère aérobie, entre 25 et 30 °C pendant le délai indiqué sous le tableau.

Souches	Croissance
**Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533	Petites colonies blanches d'aspect pelucheux, zones rouges dans le milieu situé en périphérie des colonies
**Trichophyton equinum* ATCC 22443	Petites colonies blanches d'aspect pelucheux, zones rouges dans le milieu situé en périphérie des colonies
****Candida albicans* ATCC 10231	Colonies de couleur blanche à crème et de taille petite à moyenne ; milieu jaune ou comportant des zones rouges en périphérie des colonies
** *Aspergillus niger* ATCC 16404	Inhibition partielle à complète
****Saccharomyces cerevisiae* NCPF 1211	Inhibition complète
****Escherichia coli* ATCC 25922	Inhibition complète
****Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145	Inhibition complète
****Staphylococcus aureus* ATCC 25923	Inhibition complète
Sans ensemencement	Jaune, transparent à légèrement opaque

Incubation : * 5 à 7 jours ; ** 4 à 5 jours ; *** 42 à 48 h

METHODE

Matériaux fournis

BD Dermatophyte Test Medium Agar, géloses inclinées fournies dans des fioles à bouchon à vis. Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons

La **BD Dermatophyte Test Medium Agar** est un milieu différentiel sélectif servant à l'isolement de dermatophytes à partir d'échantillons cliniques comme les ongles, les cheveux et les prélèvements cutanés (voir aussi la rubrique **Mode opératoire du test**). Les écouvillons issus de zones infectées ne sont pas des échantillons appropriés pour le prélèvement de dermatophytes. Consulter les publications citées en référence pour obtenir des informations détaillées.[3-5] Ne pas utiliser ce milieu pour des échantillons autres que ceux décrits ci-dessous.

Prélèvement des échantillons et Mode opératoire du test

Toujours utiliser des instruments stériles pour le prélèvement d'échantillon. Porter des gants de protection afin de se prémunir contre les infections.
<u>Peau :</u> Avant de retirer les squames, nettoyer le site infecté avec de l'alcool éthylique ou isopropylique dilué à 70 %. Gratter à l'aide d'un scalpel afin de retirer les squames des lésions sèches ou décollées, en partant des limites de la zone enflammée et en progressant en direction de la peau saine. Les scalpels jetables peuvent facilement endommager la peau (utiliser si possible uniquement le dos de la lame). Gratter soigneusement les zones étendues et prélever autant de matière que possible. En cas de lésions vésiculaires ou d'inflammation aiguë, retirer

délicatement la peau des cloques avec des ciseaux et des pinces. L'échantillon prélevé doit être cultivé avec le contenu de la cloque et, dans la mesure du possible, avec des squames issues de la zone avoisinante.
En présence d'infiltrats ou de processus granulomateux, prélever la matière en profondeur et dans les plis de la peau à l'aide d'une curette ou d'une lancette à vacciner. Déposer les matériaux prélevés sur un morceau de papier filtre et les insérer dans la fiole contenant la **BD Dermatophyte Test Medium Agar**.
Cheveux : Extraire les racines des cheveux ternes et sans éclat à l'aide de pinces. Les cheveux infectés sont cassants et se détachent plus facilement que des cheveux sains. Si une lampe de Wood est utilisée, prélever des cheveux qui apparaissent fluorescents sous cette lumière, même s'ils semblent sains à la lumière du jour. En cas d'observation de ce qui est communément désigné sous le terme « points noirs », extraire le cheveu infecté hors du bulbe à l'aide du bord d'un scalpel. Ne pas utiliser de cheveux coupés comme échantillon. Distribuer les cheveux sur la surface du milieu. Appliquer doucement les cheveux sur la gélose à l'aide de pinces.
Ongles : En cas d'infection sous-unguéale, retirer délicatement toutes les parties de l'ongle dont la surface est particulièrement déformée, à l'aide de ciseaux, d'une lime à ongle ou d'un scalpel. Des fragments d'ongle doivent alors être prélevés à partir du lit unguéal.
En cas d'infection superficielle, des fragments d'ongle ou de fines poussières de particules sont prélevés par raclage de la surface de l'ongle. L'utilisation d'une fraise à ongles est recommandée. Déposer les matériaux prélevés sur un morceau de papier propre avant de les insérer à l'intérieur de la fiole.

Ce milieu est utilisé pour l'isolement de dermatophytes tels que *Microsporum, Trichophyton* et *Epidermophyton*. Certains champignons pathogènes sensibles aux composants sélectifs du milieu sont inhibés dans ce milieu. C'est pourquoi il est recommandé d'inclure une boîte de **BD Sabouraud Glucose Agar**, **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol**, **BD Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol** ou **BD Sabouraud Agar with Penicillin and Streptomycin**, de manière à déceler la présence de tous les pathogènes fongiques présents dans l'échantillon.
Après ensemencement, incuber pendant 3 à 7 jours entre 25 et 30 °C. Si aucune croissance n'est détectée, poursuivre l'incubation pendant encore une semaine, ou plus si nécessaire. Noter que certains dermatophytes nécessitent une période d'incubation supérieure à 3 semaines.

Résultats
Examiner les fioles après 3 à 6 jours pour vérifier si l'indicateur a changé de couleur (du jaune au rouge ou au rose), et pour contrôler l'apparition de colonies dermatophytes typiques. Un changement de couleur vers le rouge peut également se produire en présence de *Candida* spp. Toute interprétation des couleurs de réaction effectuée après 2 semaines d'incubation ne pourra être qu'incertaine. Les résultats des milieux basés sur gélose Sabouraud mentionnés ci-dessus doivent être pris en considération pour compléter le diagnostic, en particulier si aucune croissance n'a été obtenue sur la **BD Dermatophyte Test Medium Agar**.
En raison du grand nombre de dermatophytes existants, aucun détail ne peut être fourni ici quant à leur morphologie. Consulter les publications citées en référence.[2-5]

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE
La **BD Dermatophyte Test Medium Agar** convient à l'isolement des dermatophytes (p. ex. *Trichophyton, Epidermophyton* et *Microsporum*) et doit uniquement être utilisée pour la mise en évidence de champignons à partir d'infections superficielles (peau, cheveux et ongles).[2-5]
Il ne s'agit pas d'un milieu d'isolement universel pour les champignons. Pour l'isolement de champignons provenant d'autres sites anatomiques, il convient plutôt d'utiliser l'un des milieux basés sur gélose Sabouraud cités sous **Prélèvement des échantillons et Mode opératoire du test**.
Certains champignons pathogènes, notamment certaines souches de *Microsporum,* peuvent être inhibés par le cycloheximide. Les moisissures et levures inhibées sur ce milieu génèrent parfois des infections cutanées. Par conséquent, il est recommandé d'ensemencer également tous les échantillons sur l'un des milieux moins sélectifs cités dans **Prélèvement des**

échantillons et Mode opératoire du test. Les tests de confirmation appropriés doivent être effectués afin d'effectuer l'identification finale des pathogènes isolés sur ces milieux.[2-5]

La **BD Dermatophyte Test Medium Agar** et les milieux basés sur gélose Sabouraud mentionnés ci-dessus ne conviennent pas à l'isolement de bactéries, car ces milieux sont également susceptibles de générer des infections de la peau. Par conséquent, si un risque d'infection bactérienne ne peut pas être exclu, l'échantillon doit être ensemencé sur des milieux d'étalement non sélectifs adaptés, tel qu'une **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**.
Il se peut que certains champignons saprophytes produisent des réactions faussement positives après 2 semaines d'incubation sur **BD Dermatophyte Test Medium Agar**.[2]

REFERENCES

1. Taplin, D., et al. 1969. Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM). Arch. Dermatol. 99: 203.
2. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 275-284. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
3. Sutton, D.A. 2003. Specimen collection, transport, and processing: mycology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Summerbell, R.C. 2003. Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton, and agents of superficial mycoses. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Larone, D.H. 1995: Medically important fungi - a guide to identification. 3rd edition. ASM Press, Washington.

CONDITIONNEMENT

BD Dermatophyte Test Medium Agar (milieu en flacons prêt à l'emploi)
N° réf. 257147 20 unités par carton Géloses inclinées (15 mL), en fioles de 30 mL à bouchon à vis

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d’informations, contacter le représentant local de BD.



BD Diagnostic Systems
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 http://www.bd.com